



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**“Aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa
(PCR) en tiempo real para la detección de
Campylobacter jejuni en carnes de pollo
comercializados en el mercado de Lima”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología

AUTOR

Marlene Coralí CÁRDENAS CANALES

ASESOR

Mg. Mirtha ROQUE ALCARRAZ

Lima, Perú

2013

RESUMEN

El género *Campylobacter* representa el microorganismo más comúnmente reportado en casos de infección de transmisión alimentaria y dentro de ellos el *Campylobacter jejuni* es el mayormente aislado. El conocimiento de esta realidad en nuestro medio es importante tanto para las perspectivas de la salud pública como para el Comercio internacional.

Las características microaerófilas del *Campylobacter jejuni* hacen que su aislamiento sea complicado y demande mucho tiempo. Es así que se hace necesario realizar metodologías de diagnóstico sensible y específico que proporcionen resultados oportunos para las medidas de acción correctiva en los casos que se requiera.

El objetivo del presente estudio fue desarrollar una técnica molecular de PCR en tiempo real SYBR Green con la finalidad de detectar al *Campylobacter jejuni* en carnes de pollo crudo a partir de caldo de enriquecimiento, acortando el tiempo de diagnóstico y proporcionando una técnica rápida, sensible y confiable.

La especificidad de la técnica PCR para la detección del *Campylobacter jejuni* fue demostrado a través del uso de cepas ATCC de *Campylobacter jejuni*, así como de cepas ATCC de microorganismos relacionados y no relacionados.

Se procesaron 175 muestras de carne de pollo crudo las cuales fueron enriquecidas en caldo nutritivo Bolton a partir del cual se realizó la extracción del ADN mediante un kit de extracción de lisis y cuyo producto fue utilizado para la corrida de PCR en tiempo real SYBR Green, resultando 42 muestras positivas a PCR tiempo real, lo que representa el 24% de del total de muestras.

Este ensayo reduce significativamente el total de tiempo tomado para la detección de *Campylobacter jejuni* en alimentos y es un importante modelo para la detección de otros patógenos de transmisión alimentaria.

Palabras claves: *Campylobacter jejuni*, PCR Sybr Green, prevalencia

ABSTRACT

Campylobacter is the organism most commonly reported of food-borne infection and Campylobacter jejuni is mostly isolated. The knowledge of this reality in our environment is important for both public healths as for international trade.

The microaerophilic characteristics of Campylobacter jejuni makes their isolation complicated and it demands a lot of time. For these reason it is important and necessary to perform diagnostic methods that provide sensitive and specific results in order to give an appropriate and corrective action when it is required.

The aim of this study was to develop a molecular technique of real-time PCR SYBR Green in order to detect Campylobacter jejuni in raw chicken meat from broth enrichment, shortening the time of diagnosis and providing a rapid, sensitive and reliable technique of diagnosis.

The specificity of the PCR for the detection of Campylobacter jejuni was demonstrated with ATCC strains of Campylobacter species and with related and unrelated microorganisms.

175 samples of raw chicken meat were processed. They were enriched in a nutrient Bolton broth and from these the extraction was performed using a DNA extraction kit lysis and whose product was used as a template for PCR real time. 42 samples were positive by real-time PCR, representing 24% of the total samples.

This assay significantly reduces the total time taken for the detection of Campylobacter jejuni in foods and it is an important model for the detection of other foodborne pathogens.

Key words: Campylobacter jejuni, PCR Sybr Green.